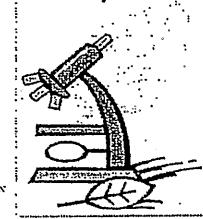


# 光合成の成色素の変性に関する研究

～人工光合成への道～



理数科2年 入江 勝太 近藤 晋  
肖 駿 福田 真由

## 1 主題設定の理由

昨年起きた東北大震災によって、今後のエネルギー問題が懸念されるなか、私達は代替エネルギーとしてもっとも身近にあり注目される植物の光合成に着目し、課題研究を行うことにした。

その折、大阪市立大学・複合先端研究機構の神谷信夫教授らが、光合成において光エネルギーを利用して行われる、水を分解して酸素を発生させる機構を解明したというニュースが流れた。今後、生物が行う光エネルギーを化学エネルギーに変換する機構が解明されれば、これを活用した再生可能エネルギーの利用や人工光合成などの技術の発展に繋がり、エネルギー問題、食料問題、さらには環境問題の解決にも大きく貢献するものと期待される。そこで私達は、光合成色素について研究し、人工光合成が安全かつ安定的な代替エネルギーとして利用可能な技術となるかを考察することにした。

図 光化学系IIの反応中心とそのクラスター構造



## 2 目的

植物の葉緑体には、効率よく光合成を行うため、特定の波長の光を吸収するいくつのかの色素を、チコライド膜に配置し、吸収したエネルギーをこの反応系中心に伝える。これによって水を分解し、水素イオンや電子を獲得して、その後のカルビンベンソン回路で二酸化炭素の還元を行っている。人工光合成の技術が実用化されるためには、この反応中心の機構だけでなく、効率よい光エネルギーの吸収を行う必要がある。そこで私達は、人工光合成の実現に向けての考察を行う目的で、植物の光合成色素の特性を調べる実験から行った。しかし、その実験を通して光合成色素は安定的なものではなく、容易に変性することが分かった。本課題研究のテーマを、光合成色素の変性の原因を探り、植物がどのように光合成色素を安定的に保持しているか調べることとした。

て実験を行い、次の内容で結果を報告する。

#### 光合成色素に関する基礎的な実験

##### 実験1 様々な光合成色素の分離

##### 実験2 光合成色素の吸収スペクトル

#### 光合成色素の変性実験

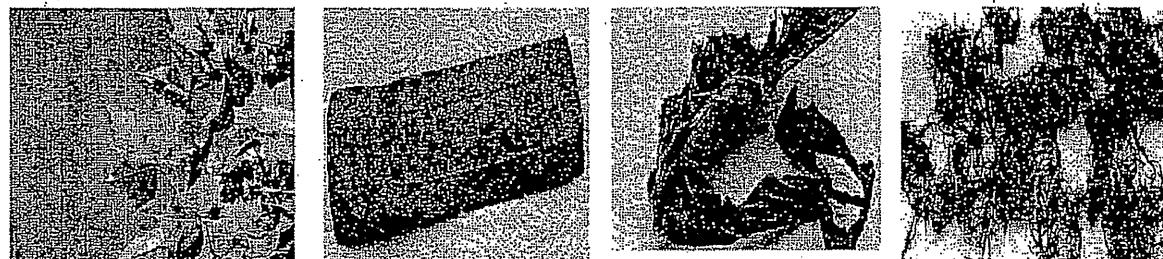
##### 実験3 光合成色素の変性を引き起こす要因

##### 実験4 葉の細胞における光刺激に対するタンパク質合成の比較

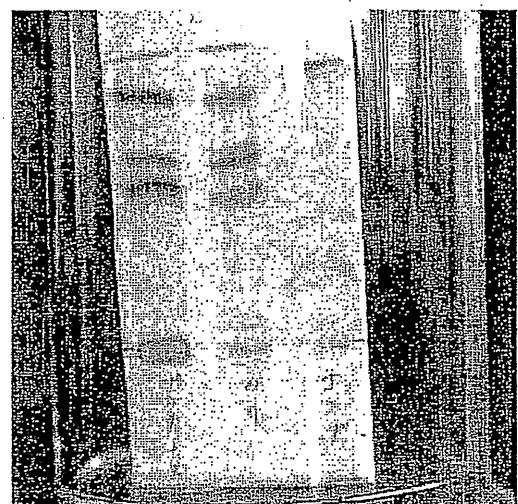
### 3 光合成色素に関する基礎的な実験

#### 実験1 様々な光合成色素の分離

初めに私達は、植物の光合成色素がどのようなものかを確認するために、色素の抽出と分離に取り組むことにした。実験材料として、鞍手高校の校章でもあるプラタナス、のり、コンブ、カジノイバラを選んだ。



これらの材料を、乳鉢ですりつぶしてアセトンで抽出した後、TLC シートに塗布して、ヘキサン:アセトンが、7.2:2.8 の展開液で薄層クロマトグラフィーを行った。しかし、カジノイバラからは色素が抽出出来ず、何度繰り返しても結果がでなかつた。これらを除いた残り3つの植物から抽出した色素についての結果を示す。右の図のように、緑色植物のプラタナスに見られるクロロフィル b が、のりやコンブには見られず、特徴的な色素が観察できた。また、のりには意外に多くの色素が含まれていることが分かつた。このように、植物が多くの色素をもつ理由は、太陽の光で効率よく光合成を行うため、それぞれの色素が異なる特定の波長の光を吸収するからである。実際の光合成は、赤色や青紫色の光を吸収するクロロフィル a によって行われるが、太陽光に含まれるそれ以外の色の光は、クロロフィル b、カロチンやキサントフィルなどの補助色素によって吸収され行われている。

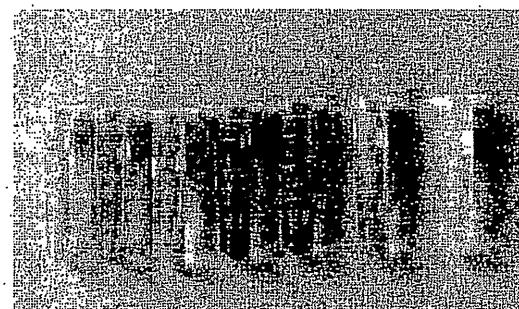


## 実験2 光合成色素の吸収スペクトル

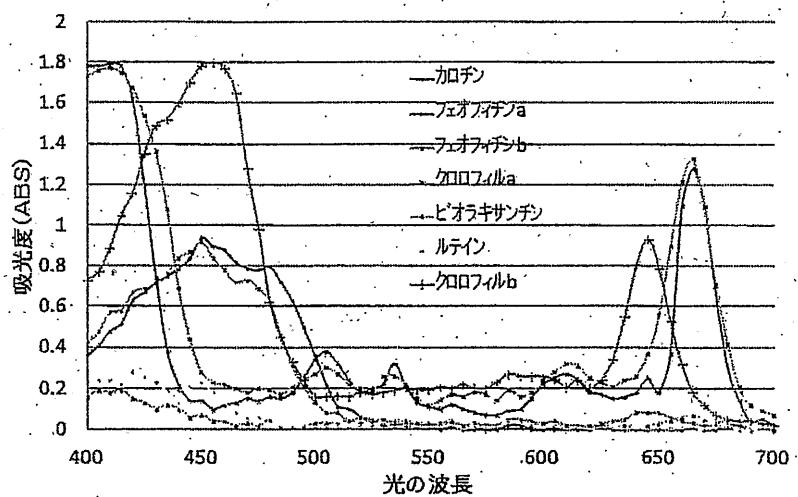
実験1で植物には多くの光合成色素があることを確認したが、これらの色素が実際にどのような色の光を吸収しているのかさらに詳しく確認することとした。そこで、プラタナスを材料として、出来るだけたくさんの量の色素をTLCシートで分離し、それぞれの色素をTLCシートからシリカゲルとともに削り取った。これを再びアセトンに溶かし遠心分離した上澄みを色素液として、吸光度計により吸収スペクトルを測定した。

実験における吸光度の測定は、色素を含んでいないアセトン溶液を対照区として色素を含んだサンプルの差より求めた。またそれを、波長400nm～700nmまでを5nmごとに測定した。その結果、それぞれの色素で吸収される波長の違いが見られた。また500nm～600nmの波長の光が吸収されていないという結果がでた。これらの波長の光が吸収されないため、植物の葉は緑色に見えるとのことである。

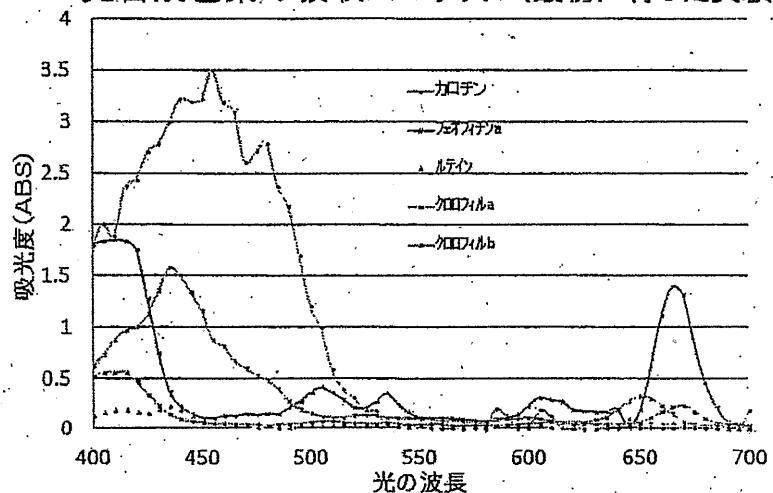
しかし、この実験を行った当初、色素の分離から抽出、さらには吸収スペクトルの測定まで実験の手法を習熟できず、たいへん時間がかかってしまった。そのためか、最初に測定したカロチン以外の色素については吸光度の測定の結果がうまくでこなかった。



光合成色素の吸収スペクトル(プラタナス)



光合成色素の吸収スペクトル(最初に行った実験)



このような現象は、平成19年度の課題研究で「光合成色素の分離と吸収スペクトルの測定～クロロフィルの劣化と吸収スペクトルの変化～」(崎山友香里、中里一機、村上弓弦、松田真紀)でも確認されており、光合成色素の劣化として報告済みである。その時は、「日本茶を入れた際、時間がたつと黒ずんでいることと同じ現象ではないか」と考察がなされて研究は終わっているが、今回の研究の中心である人工光合成の技術を獲得するためには、光合成色素が安定的かつ持続的に光を吸収しなければいけないと私達は考え、光合成色素の変性を引き起こす原因を探り、どのようにすれば、色素を安定的に維持できるかを考察しようと、課題研究のテーマをあらためて具体的に設定した。

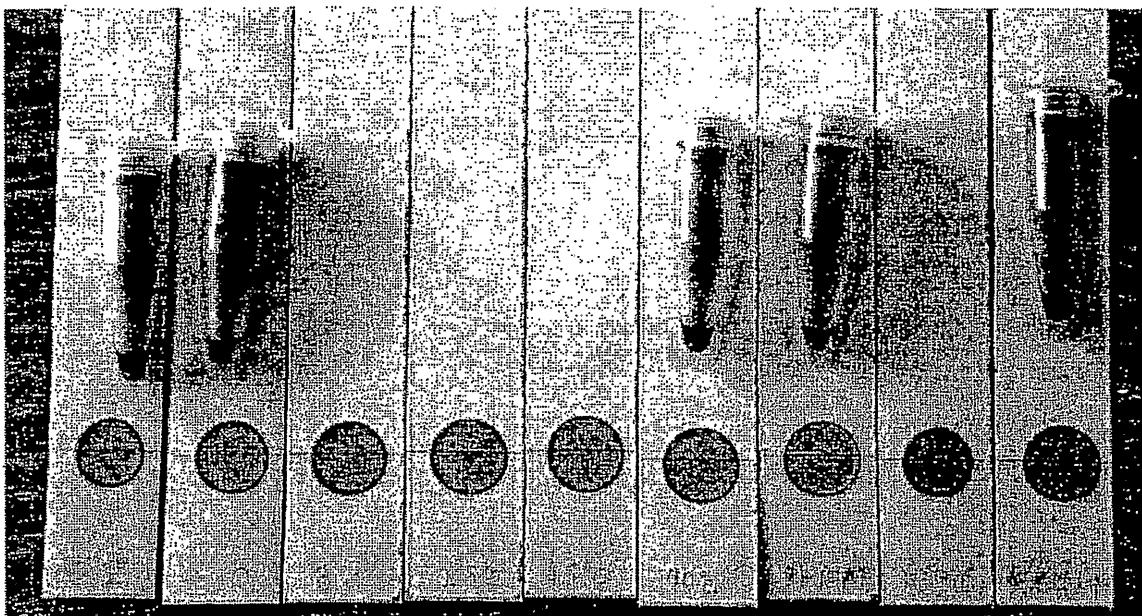
#### 4 仮説

そこで私達は、光合成色素の変性の原因となる可能性を3つ考えた。1つは、酸素である。生物を構成する物質は、酸素の強い酸化反応で変化すること知られている。そこで、光合成色素が酸素よって酸化され、吸収スペクトルに変化が起きたのではないかという仮説を立てた。ただし酸素は、光合成の光化学系IIで発生することが分かっているので、光合成色素の変性の原因になるという可能性は、あまり考えられない。2つ目は光である。光によって化学物質が変化することはよくあることであり、光が光合成色素の光を吸収する化学構造に変化を及ぼしたという仮説を立てた。しかし、光も光合成にはなくてはならない要因であり、酸素と同様に変性の原因になりうる可能性は低いと考えた。3つ目は温度である。高い温度は、タンパク質などの高分子の有機化合物を変性させることが知られている。また、お茶の色の変化などをWEBページで検索すると、お湯の高い温度が原因で、クロロフィルはフェオフィチンに変化するという記載もある。このことより、高い温度が光合成色素の変性を引き起こすのではないかという仮説を立てた。以上の3つの仮説を検証するため私達は次のような実験を行った。

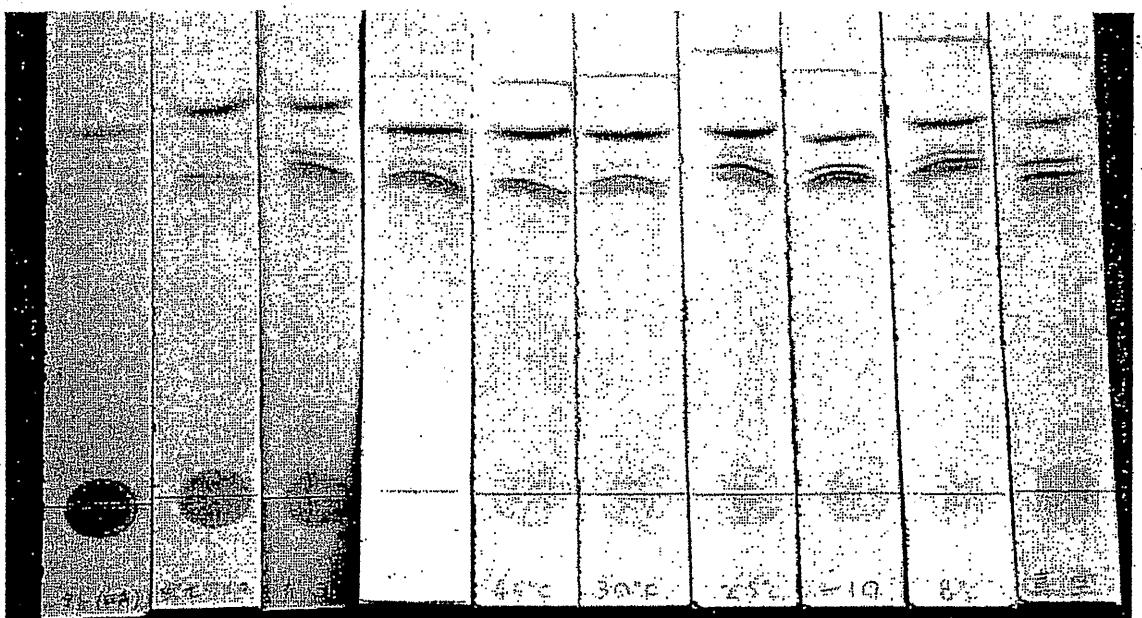
#### 5 光合成色素の変性の実験

##### 実験3 光合成色素の変性を引き起こす要因

TLCシートに、プラタナスからアセトンで抽出した色素溶液を、同量 $2\mu\text{l}$ ずつ塗布した状態で、真空1時間、暗条件で1時間-10°C、8°C、25°C、45°C、70°C、太陽光1時間、蛍光灯直下30分、蛍光灯直下60分の条件に置いた。また、抽出溶液をサンプルチューブに入れた状態で、真空1時間(ふたは開けた状態)、暗条件1時間で-10°C、70°C、30°C、太陽光1時間、蛍光灯直下1時間で処理したものを準備する。



処理が完了した段階ですでに、太陽光に当てたものは TLC シートも抽出液自体も赤みを帯び、変性している事が分かった。また温度が高い物になると、少し緑色が褪せて黄色っぽい色になった。次にこれらを展開したものが下の結果である。

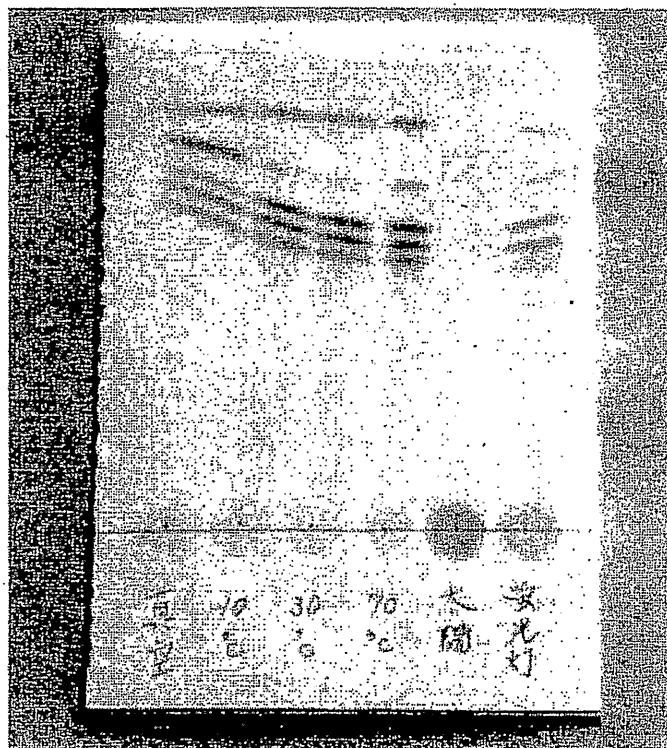


太陽光に当てたものは、光合成色素のほとんどを失っており、蛍光灯直下60分と蛍光灯直下30分が後に続き、温度の変化に対しては-10°Cと比較すると、いずれも温度に応じて、光合成色素が薄くなつた事が分かつたが、太陽の光や蛍光灯などの光をあてた場合より明らかに変化は少なかつた。真空に置いていたものに関しては-10°Cのものより、色素が薄くなつたが、これについては全くの暗条件で行っていなかつたためだと考えている。また、太陽や蛍光灯の光を照射したものは、最初に色素抽出液を塗布した部分が赤く残つていた。このような色素は、ヘキサンやアセトンに溶解しない

水溶性の色素であり、光合成色素は強い光で水溶性の色素に変化していることを示唆している。

また、抽出液自体をサンプルチューブの中に入れて処理したものについても、同量(2 μl)をTLCシートに塗布して、展開した。

これについても、同様の結果が見られ、光合成色素は光によって変性し、水溶性の色素に変わっていることが確認された。私達は、光合成色素の変性について光が原因であるとは考えにくくと仮説をたてたが、食い違う結果となってしまった。



これまでの実験で、変性の原因が光であることが示された。人工光合成への道を考察しようとしている私達にとって、予想も出来ない事態となった。すなわち、光合成色素を安定的に維持するためには光を照射できないということになり、大きな矛盾を抱えてしまうことになる。そこで私達は、通常の植物がどのように安定的に光合成を行っているのだろうかという新たな疑問に対して考えてみる事にした。

植物は、真夏の日中において、かなり強い光を浴びている。これによって多くの光合成色素が変化してしまうことになる。しかし、実際の植物では、夏の日中の陽射しを受けて赤い色に変化する事は決してない。一方で、秋に見られる樹木の紅葉は、朝晩の気温の低下と日中の十分な日差しによって色付くことが知られている。このことより、植物は強い日差しを受け光合成色素が変性すると次のような対処をするのではないかと考えた。それは光合成色素をすみやかに再生する働きが活発化する。または、光合成色素を保護するような物質が生産されているのではないかと考え、いずれにしても光の照射によって光合成色素を再生する酵素や光合成色素を保護するタンパク質の合成が盛んになるのではないかと仮説を立てた。

#### 実験4 葉の細胞における光刺激に対するタンパク質合成の比較

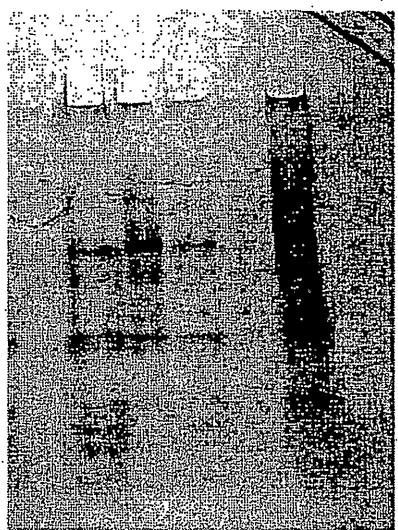
そこで、光の照射による葉の細胞内におけるタンパク質の合成の変化を確認するため、次のような実験を行った。太陽光のもとと、蛍光灯直下と、暗所にそれぞれ4時間

置いておいたプラタナスの葉をすりつぶし0.02mgをサンプルバファーにとり、抽出されるタンパク質を SDS-ポリアクリラミドゲル電気泳動で分析を行った。

その結果を右の写真に示している。左より太陽光、暗所、蛍光灯直下、空きレーン、75°Cのタンパク質の分析である。

75°Cで処理を行った葉は、枯れて水分が蒸発し、重量に対するタンパク質量が多くなってしまったため、たくさんのタンパク質が検出されたものと考えられる。太陽光や蛍光灯の下で処理した葉のタンパク質については、暗所のものと比べて大きなタンパク質が減少し、小さなタンパク質が多く作られていることが分かる。

(この実験については追証明のための実験が行われている。)



## 6 考察

この時点で、これらのタンパク質がどのような機能を持つタンパク質であるかを調べることは出来ないが、今までの実験から、光合成色素を変性から保護したり、破壊される光合成色素の再生を行ったりするタンパク質ではないということが推測される。

残された課題としては、光合成色素が変性する様子を詳しく確認する実験が必要である。具体的には、クロロフィルaの光照射の時間を変え、変性する色素の量がどのように変化するかなどである。また、光合成色素が特定の光を吸収することから、光合成色素の変性も特定の波長の光で起こることも予想できるため、どの波長の光で変性が起こるかなど調べていきたい。

## 7 まとめ

私達はこの課題研究で、光合成色素の変性の原因を探るとともに、人工光合成への実現の道を模索した。結果として、光合成色素は光によって変性することが明らかとなつた。実際の植物の体内では、光エネルギーを吸収し光合成を行っていることから、光合成色素を安定的に機能させる機構が存在していることを理解した。もし仮にその機構が、変性する光合成色素を上回る再生機能によって維持されているものならば、現時点での人工光合成の実現には遠い道筋である。ところが、もし光合成色素を保護する物質によるものならば、人工光合成の実現はそう遠い未来の話ではないだろう。しかし、現在の植物が光合成色素と光の矛盾を解決していることは間違ひのないことである。酸素発生型の光合成が太古の20億年前のラン藻類で行われるようになって以

来、長い年月をかけ進化し、研ぎ澄まされてきた結果だということを改めて実感した。

その一方で、今年の9月20日に豊田中央研究所において、世界で初めて人工光合成による有機物の合成というニュースが飛び込んできた。東北日本大震災による原子力発電所の被害で、日本のエネルギー政策が大きく変わろうとしている今、このような発見や発明がなされた事はたいへん意義深いことである。このような、科学技術の転換期に私達が光合成色素の研究を行い、その可能性が夢から現実のものとなりうることを、同世代の若者達に広く伝達できれば、より早く実現できるのではないかと信じている。

## 8 感想

入江…植物は長い時間の中で光合成に適した進化をしたことによって、光合成の矛盾を解決していることはすごいと思いました。

近藤…実験はとても難しかった。人工光合成が可能になれば世界中のエネルギー問題がほとんど解決できると思う。

肖…人工光合成が可能になれば人類にとって大きな発展になると思う。しかし、研究の結果から実現は難しいと思った。この研究を通して新しい技術を得ることは大変難しいことだと実感した。

福田…今回の実験を通じ、身近過ぎて気にした事はなかったが改めて光合成は神秘的な現象であり人間には到底及ばないものだということを実感しました。また、これから私達が大人になっていく上でさらに研究を進め光合成について理解を深め、活用していくたらいいとこの実験を通して感じました。

